

# FORMACION DE ESTRUCTURAS SIMILARES A ESCLEROCIOS DE Stenocarpella maydis (Berk.) Sutton Y S. macrospora (Earle) Sutton EN EXTRACTOS DE TEJIDOS VEGETALES<sup>1</sup>

Jairo Castaño-Zapata, Ph.D.<sup>2</sup>  
Nolvia Ramos<sup>2</sup>

## RESUMEN

*S. maydis* y *S. macrospora* son los agentes causantes de la pudrición de mazorcas de maíz, considerada como la enfermedad fungosa más importante del maíz en Centroamérica. Ambas especies se reproducen por picnidios los cuales les sirven al mismo tiempo como estructuras de sobrevivencia. Con el objeto de identificar nuevas estructuras de reposo ambas especies fueron inoculadas en platos conteniendo extractos de diferentes tejidos de maíz y otras plantas. Estos permanecieron a 28°C en oscuridad completa. Al cabo de 5 y 7 días de inoculación, en los platos sembrados con *S. maydis* y *S. macrospora* respectivamente, medio a base de maíz se observó la presencia de unas estructuras similares a esclerocios (ESE). Las ESE se formaron en toda la superficie del medio. Aunque también se produjeron ESE en otros medios, principalmente a base de granos de maíz deteriorados, estos fueron localizados sobre las paredes de los platos.

---

1 Publicación DPV/EAP #507

2 Fitopatólogo y Asistente de Laboratorio de Fitopatología. Departamento de Protección Vegetal. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano. Apartado Postal 93, Tegucigalpa, Honduras.

Las ESE son estructuras de aspecto suave, color blanquecino a gris y miden desde 3 mm de diámetro y forma semiesférica en el caso de *S. maydis* hasta más de 2 cm. de longitud y 3 mm de ancho en el caso de *S. macrospora*.

Este es el primer informe de la producción de ESE de ambas especies en medios artificiales.

## INTRODUCCION

*S. maydis* y *S. macrospora* son hongos patógenos del maíz (*Zea mays* L.) que se hallan ampliamente distribuidos a través del mundo (Morant y Warren, 1993). De acuerdo a una revisión reciente realizada por del Río y Castaño-Zapata (1994), *Stenocarpella* sp., causante de la pudrición de mazorcas del maíz constituye en la actualidad el problema de origen fungoso más limitante de la producción de maíz en Centro América. En Honduras por ejemplo, la prevalencia de *Stenocarpella* sp. en las zonas productoras de maíz es superior al 50% y la incidencia de la enfermedad puede llegar hasta el 100% (Fernández, 1990).

Ambas especies de *Stenocarpella* atacan hojas, tallos y mazorcas de maíz (Latterell y Rossi, 1982) y producen micelio septado de color blanco o crema. Luego producen picnidios negros de forma ovalada o globosa.

Dentro de los picnidios se producen picnidiosporas oscuras bicelulares, rectas o ligeramente curvadas. Las picnidiosporas de *S. maydis* miden entre 5-6 x 25-35 micras (Shurtleff, 1980), mientras que las de *S. macrospora* miden entre 6-8 x 70-80 micras (Fernández, 1990). Ambos hongos sobreviven como picnidiosporas en picnidios y micelio sobre residuos de cosechas y semillas (Shurtleff, 1980), los cuales constituyen la fuente primaria de inóculo.

En general, los hongos producen una gran diversidad de estructuras de sobrevivencia, las cuales varían desde esporas asexuales hasta agregaciones o masas compactas de micelio llamadas esclerocios (Dickinson y Lucas, 1987). Los esclerocios se forman por ramificación y agregación de hifas, dando lugar a una masa de células o estructuras mucho más diferenciadas.

Dada la gran importancia que tienen los esclerocios para la sobrevivencia de muchos hongos fitopatógenos, esta investigación tuvo como objetivo principal demostrar la formación de estructuras similares

a esclerocios (ESE) por *S. maydis* y *S. macrospora* bajo condiciones de laboratorio.

## MATERIALES Y METODOS

***S. maydis* en extractos de tejidos-agar y extractos de tejidos-dextrosa-agar:** Se usó salvado y granos deteriorados de maíz. De cada tejido se pesaron 10 g a los cuales se les adicionó 200 ml de agua en un erlenmeyer. Esta mezcla se coció en un autoclave a una temperatura de 121°C durante 40 min. Se filtró a través de gasa y se ajustó con agua el volumen a 200 ml, los cuales se dividieron en dos volúmenes de 100 ml. A uno de los erlenmeyers conteniendo 100 ml de extracto de tejido se le agregaron 2 g de agar, y al otro, 1 g de dextrosa y 2 g de agar. Luego se esterilizaron a 121°C y 6.8 kg/6.5 cm<sup>2</sup> de presión durante 20 min. Después de la esterilización y cuando los medios estaban a una temperatura de aproximadamente 45°C se vertieron unos 15 ml de medio por caja Petri. Al día siguiente, se inocularon las cajas en el centro con un sacabocado (5 mm de diámetro) conteniendo un cultivo puro de *S. maydis* de 2 semanas de edad. Se utilizó medio de avena-agar como control. El diseño experimental fue completamente aleatorizado con tres repeticiones. Las cajas se trasladaron a una incubadora marca Precision Scientific, General Electric (Modelo 805) calibrada a 28°C. Allí permanecieron durante 17 días, al cabo de los cuales se contó el número de estructuras similares a esclerocios producidos/cm<sup>2</sup>. Para tal fin se marcó sobre un círculo de plástico transparente de 9 cm de diámetro, ocho cuadrículas de 1 cm<sup>2</sup> equidistantes una de otra. El círculo de plástico con las cuadrículas se colocó sobre la base y parte externa de las cajas por donde se pudo contar fácilmente las estructuras similares a esclerocios. Esta labor se facilitó colocando las cajas contra la luz.

***S. macrospora* en extractos de tejidos-agar y extractos de tejidos-dextrosa-agar:** Se seleccionaron tejidos de maíz, arroz (*Oryza sativa* L.) y sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.]. De maíz, se utilizaron tejidos secos de pistilos, granos deteriorados, brácteas de mazorcas, hojas y salvado. De arroz se emplearon granos, y de sorgo, hojas secas. Se utilizó medio de avena-agar como control. La preparación de medios, inoculación, diseño experimental, incubación y conteo de estructuras similares a esclerocios de *S. macrospora*, se hizo como en el experimento anterior.

## RESULTADOS

**Formación de estructuras similares a esclerocios (ESE) de *S. maydis*:** Se formaron abundantes ESE en extractos de salvado de maíz. La adición de azúcar en forma de dextrosa aumentó significativamente la formación de estas estructuras (Cuadro 1). En extractos de granos deteriorados de maíz la formación de ESE fue muy baja y la adición de dextrosa inhibió su formación. No se produjo ESE en avena-agar.

Cuadro 1. Formación de estructuras similares a esclerocios de *S. maydis* en extractos de tejidos-agar y extractos de tejidos-dextrosa-agar, después de 17 días a 28°C.

Fuente del extracto	Con dextrosa				Sin dextrosa			
	I	II	III	Promedio	I	II	III	Promedio
Salvado de maíz	67 <sup>1</sup>	60	61	62a <sup>2</sup>	141	185	141	156a
Granos de maíz deteriorados	17	2	9	9 b	0	0	0	1 b
Avena-Agar (Control)	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>1</sup> Promedio de ocho cuadrículas de 1 cm<sup>2</sup> cada una.

<sup>2</sup> Promedios con letras diferentes difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Duncan (P=0.05).

**Formación de estructuras similares a esclerocios (ESE) de *S. macrospora*:** Se produjeron abundantes ESE en extractos de pistilos secos de maíz y granos de arroz seguidos por extractos de granos deteriorados y brácteas secas de maíz, respectivamente (Cuadro 2). Se formaron pocas ESE en extractos de hojas secas de maíz y sorgo y salvado de maíz. La adición de dextrosa redujo significativamente la formación de ESE en todos los extractos utilizados inhibiendo su formación en extractos de hojas secas de sorgo y salvado de maíz. No se formaron ESE en avena-agar.

Cuadro 2.- Formación de estructuras similares a esclerocios de *S. macrospora* extractos de tejidos-agar y extractos de tejidos-dextrosa-agar, después de 17 días a 28°C.

Fuente del extracto	Con dextrosa				Sin dextrosa			
	I	II	III	Promedio	I	II	III	Promedio
Pistilos secos de maíz	42 <sup>1</sup>	36	39	39a <sup>2</sup>	20 <sup>1</sup>	14	20	18a
Granos secos de maíz	31	23	62	39a	4	7	2	4c
Granos de maíz deteriorados	20	30	21	24 b	1	4	0	2cd
Brácteas de maíz	26	26	16	23 b	5	11	7	8b
Hojas secas de maíz	8	16	13	12 bc	3	4	6	4c
Hojas secas de sorgo	10	3	2	5 d	0	0	0	0d
Salvado de	6	2	1	3 d	0	0	0	0d

<sup>1</sup> Promedio de ocho cuadrículas de 1 cm<sup>2</sup> cada una.

<sup>2</sup> Promedios con letras diferentes difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Duncan (P=0.05).

## DISCUSION

En medio de extracto de salvado de maíz, la formación de ESE de *S. maydis* fue rápida (5 días después de la inoculación) en comparación con la formación de estas estructuras en extractos de maíz deteriorado que tardó 7 días. Una característica de la formación de ESE en extracto de salvado es que se producen a través de todo el medio, por el contrario, en extractos de granos deteriorados esas estructuras se producen sobre las paredes de las cajas, después de que el micelio cubre la superficie del medio.

Las primeras ESE de *S. macrospora* también se empezaron a formar a los 5 días después de la inoculación en extractos de arroz. La adición de dextrosa a este medio retardó dos días la formación de las estructuras. La formación de ESE en los demás extractos fue más retardada. Por ejemplo, en extractos de pistilos, salvado y hojas de maíz se inició a los 8 días después de la inoculación y en extractos de brácteas, granos de maíz y hojas de sorgo, empezó después de 10 días.

A excepción del medio de extracto de salvado de maíz-agar, en donde las ESE se forman directamente sobre la superficie del medio, en todos los demás extractos esas estructuras se formaron característicamente entre el margen del medio y las paredes de las cajas, predominando la formación de ESE sobre estas últimas.

Este es el primer estudio indicando la formación de ESE en especies de *Stenocarpella*. Los resultados de esta investigación demuestran que *S. maydis* y *S. macrospora* tienen la habilidad de producir ESE cuando crecen en extractos de tejidos. La formación de ESE de *S. maydis* en extractos de salvado de maíz ya había sido observada previamente por Castaño-Zapata y Ramos (1991, datos no publicados).

La adición de azúcar en forma de dextrosa al extracto de salvado de maíz aumentó 2.5 veces la producción de ESE de *S. maydis*. Sin embargo, las estructuras se reducen en tamaño debido a la alta concentración de ellas en el medio. Sobre este medio, las ESE se forman característicamente en círculos concéntricos, indicando que a medida que el hongo agota el azúcar, se induce la formación de ESE.

El azúcar tuvo un efecto inhibitorio bien marcado sobre la formación de ESE de *S. macrospora*. Con extractos de pistilos secos de maíz la reducción fue menos acentuada (50%) en comparación con los otros extractos donde el efecto inhibitorio osciló entre 33 y 100%.

En avena-agar, un medio adecuado para la producción de picnidios de ambas especies de *Stenocarpella* no se produjeron ESE. Así como hay diferencias marcadas en el tamaño de las picnidiosporas de *S. maydis* y *S. macrospora* (Shurtleff, 1980, Fernández, 1990), también las hay en el tamaño de ESE. Por ejemplo, el tamaño de las ESE de *S. maydis* osciló entre 1-5 mm de largo, mientras que las de *S. macrospora* variaron entre 1-12 mm de largo.

No es un fenómeno extraño observar la formación de estructuras similares a esclerocios en especies de *Stenocarpella*, ya que se sabe que la formación de esclerocios en ciertas especies de hongos, es inducida, entre otras causas, por factores nutricionales, incluyendo extractos de plantas, la proporción de C/N, iones minerales y vitaminas (Dickinson y Lucas, 1987). De acuerdo a estos investigadores, los factores morfogenéticos internos relacionados con el desarrollo de una colonia individual parecen regular la formación de los esclerocios.

La capacidad de *S. maydis* y *S. macrospora* de formar ESE es de gran importancia epidemiológica, ya que estos hongos además de poder sobrevivir como picnidiosporas en picnidios sobre residuos de cosechas y granos de maíz (Shurtleff, 1980) y en tejidos de otras gramíneas como el sorgo y pasto Guinea, y aún en hojas de banano (Castaño-Zapata y Ramos, 1993), podrían sobrevivir como esclerocios, lo cual dificultaría más el manejo de las enfermedades que causan ambas especies en maíz. Se sabe que los esclerocios se destacan en la naturaleza por su longevidad y resistencia a condiciones ambientales adversas.

### LITERATURA CITADA

- Castaño-Zapata, J. y N. Ramos. 1993. Producción de picnidios de *Stenocarpella maydis* (= *Diplodia maydis* Berk.) Sutton en tejidos vegetales y medios semisintéticos. *Ceiba*. 34(2): 272-278.
- del Río, L.E. y J. Castaño-Zapata. 1994. Estado actual de la investigación sobre pudrición de mazorcas de maíz provocada por *Stenocarpella* sp. en Centroamérica. *Ceiba*. 34(2): 211-228.
- Dickinson, C.H. y J.A. Lucas. 1987. Patología vegetal y patógenos de plantas. Editorial Limusa, México. 312 p.
- Fernández, H. R. 1990. Identificación de los organismos causantes de la pudrición de mazorcas de maíz (*Zea mays* L.) en Honduras. *Ceiba*. 31 (1):15-20
- Latterell, F. M. and A. E. Rossi. 1982. *Stenocarpella macrospora* (= *Diplodia macrospora*) and *S. maydis* (= *D. maydis*) compared as pathogens of corn. *Plant Disease*. 67 (7): 725-729.
- Morant, M. A. and H. L. Warren. 1993. A synthetic medium for mass production of pycnidiospores of *Stenocarpella* species. *Plant Disease*. 77 (4): 424-426.

Shurtleff, M. C. (ed.). 1980. Compendium of corn diseases. Second Edition. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 105 p.